

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

STUDIJNÍ PROGRAM: CHEMIE

STUDIJNÍ OBOR: CHEMIE A BIOLOGIE SE ZAMĚŘENÍM NA VZDĚLÁVÁNÍ



Jana Horská

JAK A PROČ VYPOVÍDÁ HUSTOTA PRŮDUCHŮ O ATMOSFERICKÉ KONCENTRACI CO₂?

HOW AND WHY WE CAN ESTIMATE ATMOSPHERIC
CO₂ CONCENTRATION FROM STOMATAL DENSITY?

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

ŠKOLITEL: Mgr. Zuzana Lhotáková Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 9.5.2011

Jana Horská

Poděkování:

Můj dík patří především Zuzaně Lhotákové, za její vstřícnost a trpělivost, za cenné připomínky a za mnohá povzbuzení, kterých se mi z její strany při vytváření této práce dostalo. Děkuji také svým rodičům, za to, že mě provázeli svou modlitbou.

V Praze dne 9.5.2011

Jana Horská

Název práce: Jak a proč vypovídá hustota průduchů o atmosferické koncentraci CO₂?

Autor: Jana Horská

Vedoucí práce: Mgr. Zuzana Lhotáková Ph.D., Katedra experimentální biologie rostlin PŘF UK

Konzultanti: prof. RNDr. Lubomír Nátr DrSc., Katedra experimentální biologie rostlin PŘF UK, doc. RNDr. Jana Albrechtová Ph.D., Katedra experimentální biologie rostlin PŘF UK

Abstrakt: Koncentrace CO₂ v atmosféře Země vždy kolísala. V minulosti, však nikdy nedošlo k jejímu nárůstu tak rychle, jak jsme toho svědky za posledních 200 let, na čemž má nepochybně svůj díl také člověk. Změny frekvence průduchů v závislosti na [CO₂] pozorované u žijících rostlin podnítily zkoumání tohoto jevu také na herbářových a fosilních rostlinách a následně byly využity k odhadům [CO₂] v atmosféře minulosti. Tato práce poskytuje ucelený pohled na problematiku chování rostlinných průduchů v měnící se [CO₂], zahrnuje vliv faktorů prostředí na zakládání průduchů, zabývá se rozdílností odpovědí mezi evolučně odlišnými skupinami rostlin, hodnotí výhody a nevýhody jednotlivých způsobů vyjádření množství průduchů na listu v závislosti na [CO₂] a diskutuje využití frekvence průduchů k odhadům koncentrace CO₂ minulosti.

Klíčová slova: hustota průduchů, stomatální index, koncentrace oxidu uhličitého, globální změna klimatu, cyklus uhlíku

Title: How and why we can estimate atmospheric CO₂ concentration from stomatal density?

Author: Jana Horská

Abstract: The atmospheric carbon dioxide concentration have always been fluctuating. In the past [CO₂] did not ever increase as quickly as in the last 200 years and apparently human activities such as fossil fuel burning contribute significantly to this increase. Changes in stomatal frequency as a reaction on changes in [CO₂] were observed on several species of living plants. It leads to investigation of stomatal frequency of herbarium samples and fossil plants. These estimates of stomatal frequency were consequently used to estimate levels of atmospheric [CO₂] in the past. This study describes behavior of stomata in variable [CO₂] and summarizes influence of environmental factors on stomatal patterning. The differences in responses between groups of plants of different evolutionary origin are considered. The advantages and disadvantages of selected stomatal

parameters are discussed considering their suitability as tools for [CO₂] estimate in the past.

Key words: stomatal density, stomatal index, carbon dioxide concentration, global climate change, carbon cycle

Obsah dokumentu

Úvod	8
Kapitola 1	
Globální změna klimatu	9
1.1 CO ₂ jako skleníkový plyn	9
1.2 Vývoj CO ₂ v historii Země	10
1.3 Cyklus uhlíku	11
1.4 Role vegetace v globálním cyklu vody	13
Kapitola 2	
Struktura a funkce průduchů	14
2.1 Struktura průduchů	14
2.2 Funkce průduchů	15
2.3 Kvantifikace průduchů	18
2.4 Vývoj průduchů na rostlině	20
Kapitola 3	
Průduchy a měnící se atmosferická koncentrace CO₂	27
3.1 Odhady koncentrace CO ₂ v atmosféře minulosti	27
3.2 Vliv koncentrace CO ₂ na vodivost průduchů, na SD a SI	27
Závěr	35
Zdroje a použitá literatura	36

Seznam použitých zkratek

[CO ₂]	koncentrace oxidu uhličitého
ABA	kyselina abscisová, (abscisic acid)
EPF	skupina epidermis ovlivňujících faktorů, (epidermal factor family)
EPF1	epidermis ovlivňující faktor 1, (epidermal patterning factor 1)
EPF2	epidermis ovlivňující faktor 2, (epidermal patterning factor 2)
g_{max}	maximální vodivost průduchu
HIC	gen pro vysokou koncentraci CO ₂ , (gene for high carbon dioxide)
KCS	3-ketoacyl koenzym A syntáza
Ma	milión let, (million ages)
PL	délka průduchu, (pore lenght)
ppm	počet částic z mlionu, (parts per million)
SD	hustota průduchů, (stomatal density)
SI	stomatální index, (stomatal index)
SDL	hustota průduchů na jednotku délky, (stomatal density per lenght)
SNL	počet průduchů na délku jehlice (stomatal number per lenght)

SR průduchové řady, (stomatal rows)
TMM gen pro tvorbu a formování průduchů, (too many mouths gene)
TP transpirační poměr
TSDL skutečná hustota průduchů na jednotku délky, (true stomatal density per lenght)
WUS účinnost využití vody, (water use efficiency)

Úvod

Koncentrace CO_2 v atmosféře Země je nestálá. Ke změnám dochází jak v řádech milionů let, tak během ročního cyklu. Roční vývoj $[\text{CO}_2]$ v atmosféře je výrazně ovlivněn přítomností vegetace. Většina pevniny se nachází na severní polokouli, tím také většina ekosystémů je přítomna na této polokouli. Hlavní část ekosystémů tvoří rostlinné druhy. Rostliny jak známo fotosyntetizují a míra fotosyntézy je závislá na ročním období. Ukládání CO_2 do těl rostlin během vegetační sezóny a téměř nepatrná aktivita fotosyntézy v zimním období, se proto odráží v roční dynamice $[\text{CO}_2]$.

Ačkoliv se koncentrace CO_2 v atmosféře Země měnila vždycky, od poloviny 19. století dochází k nárůstu $[\text{CO}_2]$ rychleji než kdykoliv dříve. Je nesporné, že určitý podíl na tomto zvýšení má také lidská společnost, především kvůli svému nerozumnému zacházení s přírodními zdroji. Další očekávaný nárůst $[\text{CO}_2]$ nás proto vede ke snaze pochopit reakce rostlin na tyto změny. K porozumění chování rostlin jsou využívány experimentální ale i herbářové a fosilní rostliny. Na základě frekvence průduchů na listech fosilních druhů a srovnáním s průduchovou frekvencí na současných listech je možné odhadovat úroveň oxidu uhličitého, které se v atmosféře vyskytovaly v minulosti

Tato práce poskytuje ucelený pohled na problematiku chování rostlinných průduchů v měnící se $[\text{CO}_2]$. Zahrnuje vliv faktorů prostředí na zakládání průduchů, zabývá se rozdílností odpovědí mezi skupinami rostlin, hodnotí výhody a nevýhody jednotlivých způsobů vyjádření množství průduchů na listu v závislosti na $[\text{CO}_2]$ a diskutuje využití frekvence průduchů k odhadům atmosferické $[\text{CO}_2]$ v minulosti.

Kapitola 1

Globální změna klimatu

Rozvoj naší společnosti se po polovině 19. století začal ubírat novým směrem. Lidská pozornost se obrátila k fosilním zdrojům, jejich využívání umožnilo rychlejší rozvoj, ale také s sebou přineslo nemalé problémy. Příspěvek skleníkových plynů do atmosféry a následné zesílení skleníkového efektu je jedním z nich. Nárůst atmosferické $[CO_2]$ během posledních dvou století je tedy způsoben také činností člověka. Hlavní z příčin jsou spalování fosilních paliv a změna ve způsobu využívání půdy.

1.1 CO_2 jako skleníkový plyn

Klima naší planety je utvářeno a ovlivňováno mnoha faktory, patří mezi ně také skleníkový efekt se skleníkovými plyny. Z nejvýznamnějších skleníkových plynů uvádím oxid uhličitý (CO_2), methan, oxidy dusíku a vodní páru. Skleníkový efekt, jeho schéma vidíme na Obr. 1.1, přispívá k vyšší průměrné globální teplotě, jejíž hodnota je v současnosti $16^\circ C$. Bez přítomnosti skleníkového efektu by průměrná globální teplota byla asi o $33^\circ C$ nižší. Život na Zemi, tak jak jej známe dnes, by tedy nebyl možný.



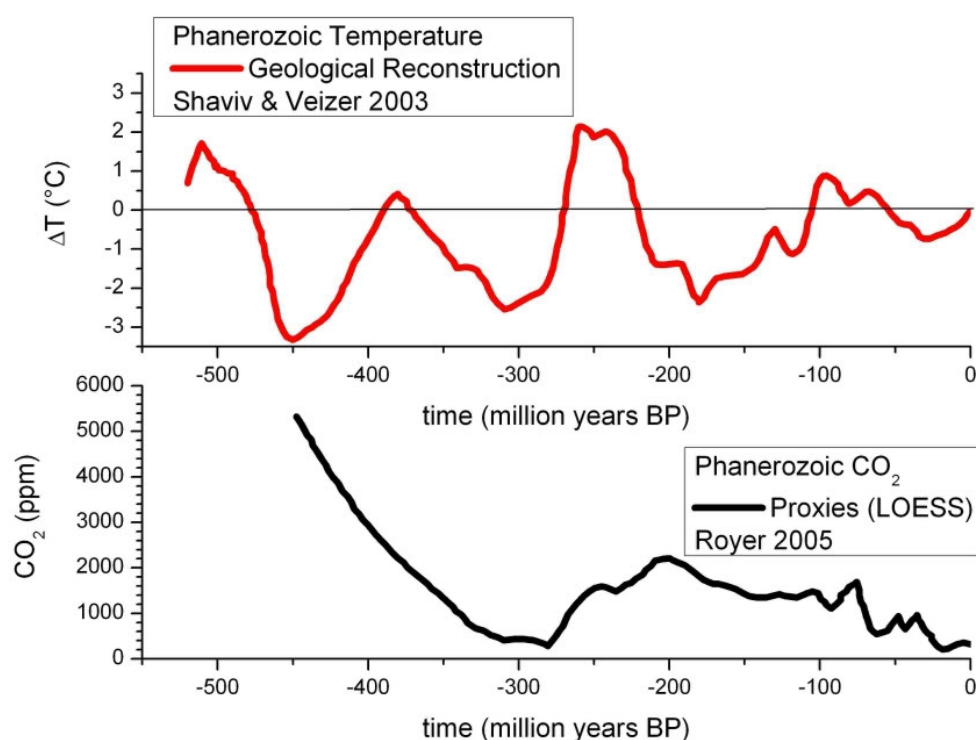
Obr. 1.1: Schéma skleníkového efektu. Převzato z: <http://www.cooltheworld.com>

Sluneční záření od krátkovlnného až po dlouhovlnné prochází zemskou atmosférou. Část záření je atmosférou absorbována, případně odražena zpět do vesmíru, zbytek záření atmosférou prochází a je absorbován povrchem Země. Země po přijetí energie vyzařuje zpět do vesmíru dlouhovlnné infračervené záření, které je skleníkovými plyny velmi

ochotně pohlcováno. Skleníkové plyny vyzařují zpět k zemskému povrchu záření o delších vlnových délkách. Doba prodlevy od vstupu záření do atmosféry Země do konečného vyzáření do vesmíru se za přítomnosti skleníkových plynů prodlužuje. Opakované absorpce a emise posunují záření do stále delších vlnových délek, tedy do infračerveného záření, a s každým posunem dochází k uvolnění tepla. Zvyšováním množství skleníkových plynů dochází k navýšení teploty atmosféry. Atmosferická teplota pak vzrůstá, dokud záření atmosférou emitované do vesmíru není vyšší než záření emitované Zemí do atmosféry (Nátr, 2000).

1.2 Vývoj CO₂ v historii Země

Úrovně atmosferické [CO₂] v historii planety Země byly značně variabilní, Obr. 1.2. Pro většinu Phanerozoika, tedy posledních 542 Ma, nacházíme pozitivní zpětnou vazbu mezi [CO₂] v atmosféře a průměrnou povrchovou teplotou Země. Dvě nejdelší phanerozoická zalednění na rozhraní karbonu a permu (300 Ma) a během pozdního kenozoika (posledních 20 000 let) jsou jediné intervaly spojené s dlouhodobě nízkou hladinou CO₂, nižší než 500 ppm (Royer, 2006).



Obr. 1.2: Časový průběh průměrné teploty zemského povrchu vztažený k současné hodnotě průměrné teploty. Časový průběh [CO₂] v atmosféře Země. Překlad: Phanerozoic temperature, teplota v průběhu phanerozoika; time (million years BP), čas (miliony let před současností); phanerozoic CO₂, [CO₂] v průběhu phanerozoika. Převzato z: <http://www.readers-edition.de>.

V časovém období posledních 416 Ma dosáhla $[\text{CO}_2]$ maximální hodnoty 3300-3600 ppm během spodního devonu (Berner, 2006). Pro spodní devonskou glaciaci (445-443 Ma) jsou odhadovány velmi vysoké hodnoty $[\text{CO}_2]$ 5600 ppm; model GEOCARB naznačuje hodnoty odpovídající 4200 ppm, model Hirnantian udává hodnoty $[\text{CO}_2]$ od 3000 do 5000 ppm (Royer, 2006).

Ačkoliv nejsou dostupné záznamy $[\text{CO}_2]$ pro svrchní devonskou a spodnokarbonskou glaciaci (období před 361-349 Ma), byly určeny mírně vysoké hodnoty $[\text{CO}_2]$, 1000 ppm, pro období 3 Ma před devonskou glaciací a 1300 ppm pro období 7 Ma po spodnokarbonské glaciaci (Royer, 2006). Jura a křída (před 200-100 Ma) jsou časové úseky globálního ochlazení s nízkými hodnotami $[\text{CO}_2]$. Podle odhadů modelu GEOCARB se pohybovaly mezi 2200-800 ppm (Royer, 2006). Smith et al. (2010) pro toto období uvádí výrazně nižší hodnotu $[\text{CO}_2]$ 560 ppm.

Pro časný paleogén (55-34 Ma) byly stanoveny hodnoty $[\text{CO}_2]$ na základě frekvence průduchů. Jsou přibližně podobné dnešním hodnotám, pohybují se mezi 450 a 700 ppm. Pro teplotní maximum období eocénu (asi před 55 Ma), kdy došlo ke krátkému prudkému oteplení, je odhadována hodnota $[\text{CO}_2]$ 826 ppm (Smith et al., 2010).

Z nejmladšího období kvartéru známe pravidelné kolísání klimatu, střídání dob ledových a meziledových. Tyto cykly se opakovaly v intervalu dlouhém přibližně 117 000 až 126 000 let. Hodnoty $[\text{CO}_2]$ se pohybovaly mezi 180 ppm a 300 ppm (Nátr, 2000). Během ledových maxim posledního milionu let se $[\text{CO}_2]$ ustálila mezi 170 a 190 ppm. Poslední ledové maximum, před 18 000 až 20 000 lety, představuje zajímavé období, kdy si nízká $[\text{CO}_2]$ pravděpodobně vynutila fyziologické funkce C_3 rostlin (Gerhart, Ward, 2010). 180-190 ppm $[\text{CO}_2]$ tohoto období je nejnižší známá v celé evoluci rostlin. Poté $[\text{CO}_2]$ dosáhla úrovně 270 ppm. Tato hodnota přetrvávala až do doby před průmyslovou revolucí, tedy do poloviny 19. století. $[\text{CO}_2]$ v současnosti činí 392 ppm (<http://www.CO2now.org>).

Jsou období, ve kterých chybí záznam o teplotě a množství CO_2 , patří mezi ně pozdní ordovik, pozdní devon a časný karbon.

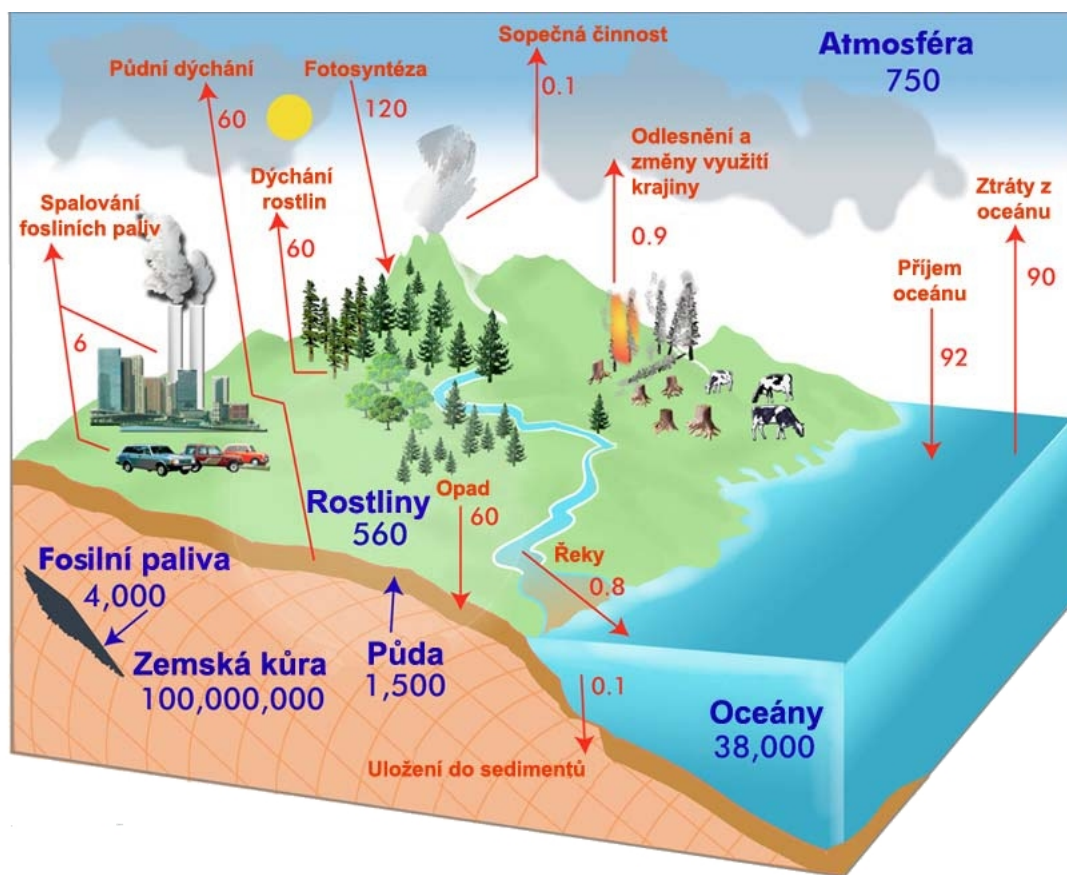
1.3 Cyklus uhlíku

Oxid uhličitý hraje významnou roli v globálním koloběhu uhlíku. V měřítku mnoha milionů let probíhá většina procesů ovlivňujících koncentraci atmosferického CO_2 výměnou uhlíku mezi atmosférou a horninami. Tento dlouhodobý geochemický uhlíkový cyklus je odlišný od známějšího krátkodobého cyklu, který zahrnuje přenos uhlíku mezi oceány, atmosférou, biosférou a půdami. V dlouhodobém cyklu dochází ke ztrátě CO_2 z atmosféry fotosyntézou, ukládáním organické hmoty do sedimentů a reakcí atmosferického CO_2 s hořečnatými a vápenatými křemičitany během kontinentálního zvětrávání, kdy se tvoří vápenaté a

hořečnaté uhličitany na mořském dně, reakce 1.1, 1.2 (Berner, Kothavala, 2001).



Uvolnění CO_2 zpět do atmosféry v dlouhodobém měřítku probíhá oxidativním zvětráváním staré organické hmoty a tepelnou přeměnou uložených uhličitánů a organické hmoty, což vede k uvolnění CO_2 zpět na povrch planety, tedy do atmosféry, tento proces popisuje reakce 1.3 (Berner, Kothavala, 2001). Koloběh uhlíku v globálních souvislostech je zobrazen na Obr. 1.3.



Obr. 1.3: Cyklus uhlíku. Uvedené hodnoty jsou v řádech petagramů, 10^{15}g . Upraveno podle: 2010 GLOBE Carbon Cycle Project, společný projekt University of New Hampshire, USA a Karlovy Univerzity v Praze a GLOBE Programm Office.
<http://classic.globe.gov/fsl/html/templ.cgi?carboncycleDia>

1.4 Role vegetace v globálním cyklu vody

Rostliny jsou důležitým činitelem v koloběhu vody. Transportují vodu mezi půdou a atmosférou. Množství transpirací odpařené vody z rostliny ovlivňuje především vodivost průduchů, více v kap. 2.2.2, relativní vlhkost okolního vzduchu, teplota a proudění vzduchu v blízkosti listu.

Transpirací se rostlina ochlazuje a odevzdává vodu ve formě páry do okolí. Jsou-li průduchy uzavřené, za tmy nebo při nedostatku vody, rostlina nemůže transpirovat. Kombinace vysokého ozáření a nedostatku vody vede k oteplování jak částí těla rostliny, tak prostředí, ve kterém rostlina žije, dochází také ke snížení fotosyntetické produkce.

Na stanovištích, kde je nízký pokryv nebo absence vegetace se setkáme s výrazným kolísáním teplot kvůli nízkému zadržování vody těly rostlin. Voda se během dne za vysoké teploty snadno vypaří, následkem čehož nastane velké noční ochlazení. Za přítomnosti dostatečného množství rostlin k takovému jevu nedochází. Rostliny ve svých tělech i v půdě zadržují přibližně konstantní množství vody, v noci proto nedojde k tak výraznému ochlazení. Příkladem mohou být deštné pralesy, kde změna teploty mezi dnem a nocí je pouze několik °C (Pavlová, 2005). Příčinou těchto jevů je vyšší tepelná kapacita vody ve srovnání s tepelnou kapacitou vzduchu.

Rostliny označované jako C3 reagují na zvýšenou [CO₂] snížením vodivosti průduchů. Voda v rostlině je tak lépe využita. Dochází k nižšímu odparu a tím k ovlivnění klimatu, protože s nižším odparem vody se méně tvoří oblačnost (Lammertsma et al., 2011). Také z tohoto důvodu, že rostliny jsou významným klimatotvorným činitelem, je výhodné porozumět jejich reakcím na změny [CO₂].

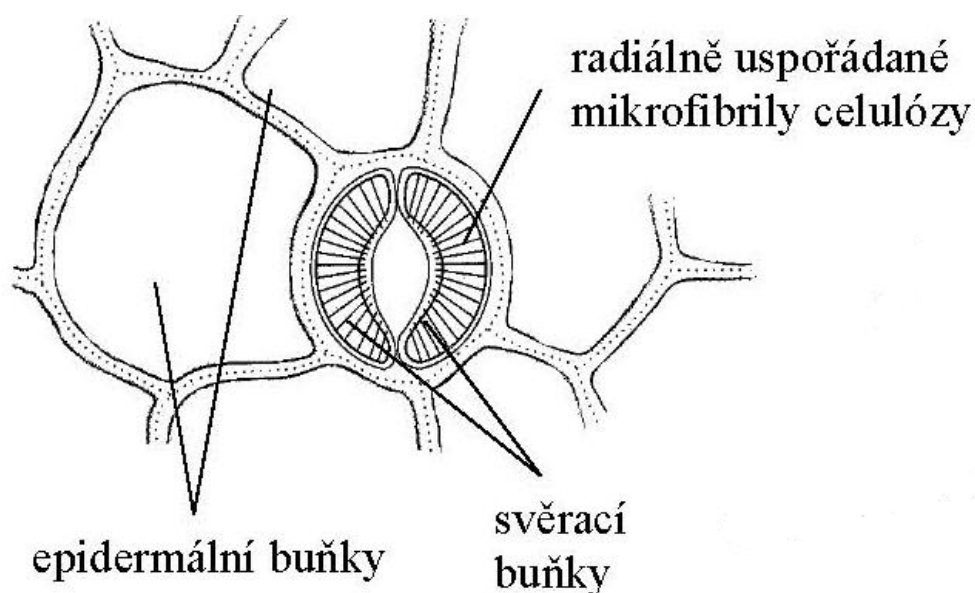
Kapitola 2

Struktura a funkce průduchů

Rostlinné průduchy jsou póry, kterými rostliny vyměňují plyny s okolím. Hrají klíčovou roli v regulaci rovnováhy mezi produktivitou fotosyntézy, tedy množstvím asimilovaného uhlíku, a výdejem vody - transpirací (Smith et al., 2010).

2.1 Struktura průduchů

Rostlinný průduch je složen ze dvou svěracích buněk, mezi kterými se nachází průduchová štěrbina. Příčinou otevírání a zavírání průduchů je změna turgorového tlaku ve svěracích buňkách, více v kap. 2.2.1.

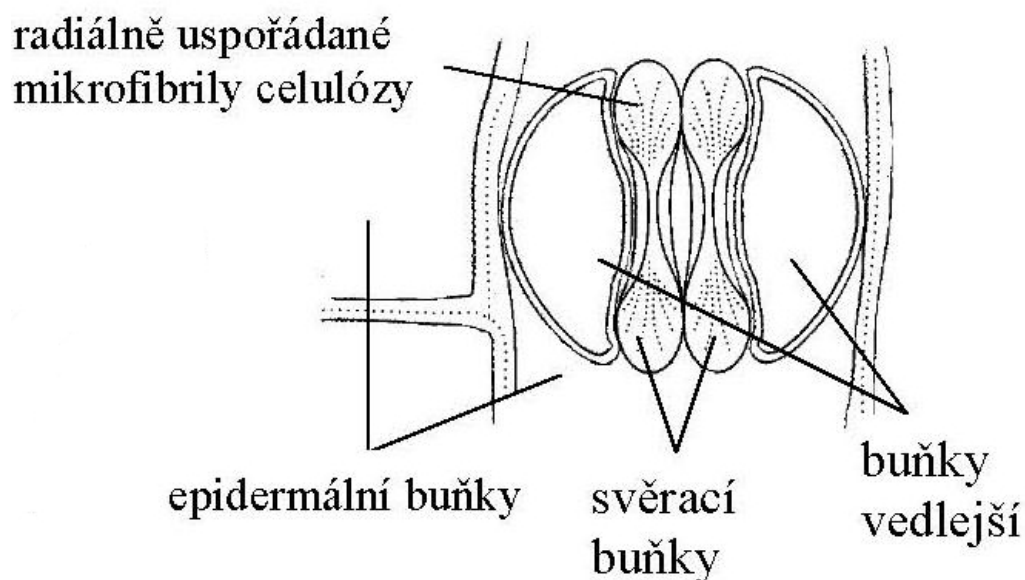


Obr. 2.1: Schématický nákres průduchu typu *Amarylis* (Pavlová, 2005).

U rostlin nacházíme dva základní typy průduchů. Nejčastějším je průduch typu *Amarylis*. Svěrací buňky těchto průduchů jsou ledvinitého tvaru. Buněčná stěna přivrácená do průduchové štěrbině je ztlustlá, ve zbylých oblastech je stěna tenká, tedy pružná. Celulózové mikrofibrily jsou ve stěně uspořádány radiálně a obklopují průduchovou štěrbinu, jak je znázorněno na Obr. 2.1.

Druhým typem je průduch nazývaný *Graminae*. Je tvořen dvěma svěracími buňkami činkovitého tvaru, střední část buněk má ztlustlé stěny, koncové části jsou kulovité a tenkostěnné. Buňky svěrací spolu s buňkami vedlejšími, popř. podpůrnými tvoří průduchový komplex. Otevírání tohoto průduchu je umožněno zvýšením turgoru v koncových kulovitých částech buněk, tím dojde k oddálení tlustostěnných částí a otevření průduchu.

Odlišné uspořádání mikrofibril je znázorněno na Obr. 2.2. Tento typ průduchů často vytváří na listech řady. Vyskytuje se u trav a rostlin šáchorovitých (Votrubová, 2001).



Obr. 2.2: Schematický náčrt průduchu typu *Graminae* (Pavlová, 2005). Upraveno.

Většina průduchů na rostlině je umístěna v epidermis listů, ve stonkové epidermis je počet průduchů významně nižší. Distribuce průduchů na listu se liší napříč druhy. Příkladem mohou být jehličnany, které mají průduchy uspořádané v řadách.

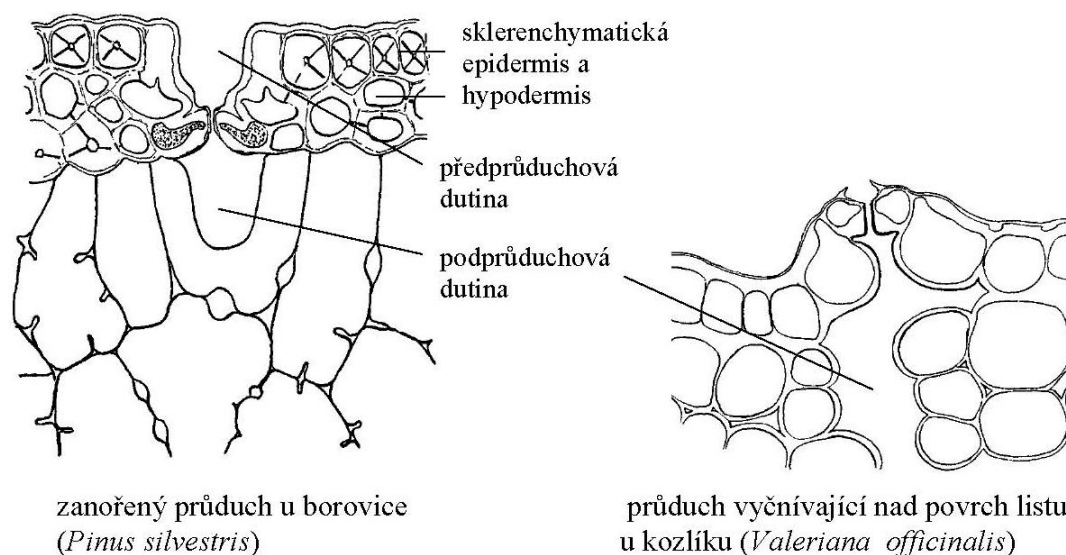
Bylinné druhy jsou obecně amfistomatické, mají průduchy rozptýlené po obou površích listu. Počet průduchů u těchto rostlin je obvykle vyšší na spodní straně listu (Kamakura, Furukawa, 2007). Kromě těchto morfologických odlišností je rozdíl mezi průduchy také v odpovědi na podněty přicházející z vnějšího prostředí. Průduchy spodní strany listu jsou na změny podmínek obvykle citlivější než průduchy svrchní strany listu, jak dokládá studie Kamakura, Furukawa (2007), kde průduchy spodní strany listu byly citlivější ke koncentraci kyseliny abscisové a Ca^{2+} iontů než průduchy na svrchní straně.

2.2 Funkce průduchů

Jak bylo řečeno výše, průduchy představují komunikační kanál pro plyny mezi rostlinou a atmosférou. Podílejí se na pohybu vody systémem půda – rostlina – atmosféra. Jev, kterým rostlina skrze průduchy odevzdává vodu ve formě vodní páry do okolí, se nazývá transpirace.

Transpirace je výrazně omezena přítomností ochranné vrstvy, kutikuly, která se nachází na většině povrchu rostliny a pro vodu je velmi málo propustná. Celkové množství vody, které rostlina odpaří, je účinně

regulováno mírou otevření průduchové štěrbin, vodivostí průduchů. Při maximální průduchové vodivosti, kdy jsou všechny průduchy na rostlině plně otevřeny, je rychlost transpirace ovlivněna dalšími faktory: celkový počet průduchů na rostlině, vzájemné uspořádání průduchů a poloha průduchů vůči povrchu listu. Zanořené průduchy, snižují rychlost transpirace více, než průduchy, které vystupují nad nebo leží v rovině listu (Pavlová, 2005). Umístění průduchů je vidět na Obr. 2.3.



Obr. 2.3: Schematický náčrt zanořeného a vyčnívajícího průduchu (Pavlová, 2005).

Na světle je transpirace ovlivněna především spotřebou CO_2 . Pro vstup oxidu uhličitého do rostliny a výstup molekul vody v podobě páry je pouze jedna cesta. Difúze CO_2 z atmosféry do stromatu chloroplastů je asi 1,6-krát pomalejší než difúze vody z listu do atmosféry (Pavlová, 2005). Molekula CO_2 je větší než molekula vody, proto je difúzní koeficient CO_2 nižší. V mezibuněčných prostorách, stejně jako v atmosféře je koncentrace vodní páry několikanásobně vyšší než $[\text{CO}_2]$. Počet molekul vody, které opouštějí vnitřní prostor listu, je vyšší než počet molekul oxidu uhličitého, který do listu vstupuje. Navíc molekula CO_2 je fotosynteticky zabudovávána až ve stromatu chloroplastů, musí tedy překonat větší odpor než molekula vody. V difuzi brání především odpor hraniční vrstvy listu, odpor průduchů a odpor mezofylu (Pavlová, 2005), který zahrnuje plynnou fázi mezibuněčných prostor, vodnou fázi na povrchu mezofylových buněk a lipidickou fázi membrány mezofylových buněk. Přičemž v plynné fázi je difúze CO_2 až čtyřikrát vyšší než ve vodné fázi (Terashima et al., 2010). Z uvedeného je zřejmé, že rostlina musí přísně kontrolovat množství přijatého CO_2 a do okolí odevzdané vody.

Kvalitu hospodaření s vodou můžeme u rostlin vyjádřit pomocí transpiračního poměru (TP), který je definován rovnicí 2.1.

$$TP = \frac{\text{počet vytranspirovaných molekul } H_2O}{\text{počet navázaných molekul } CO_2} \quad 2.1$$

Převrácená hodnota TP představuje častěji používaný poměr WUE (water-use efficiency), účinnost využití vody.

2.2.1 Mechanismus otevírání a zavírání průduchů

Otevírání a zavírání průduchů je aktivní proces. Při nedostatku vody je z kořenů do listů transportována kyselina abscisová (ABA). ABA vyvolá v průduchových buňkách zvýšení koncentrace Ca^{2+} , vápenatý kation blokuje vstup K^+ do buňky, blokuje aktivitu ATPázy a otevírá aniontové kanály. To vše způsobí výstup vody ze svěřacích buněk, následné snížení turgoru a uzavření průduchové štěrby.

Naopak při dostatku vody není ABA přenášena k listům, ATPáza je aktivní, čerpá H^+ ionty ven z buněk, čímž vytváří protonový gradient. Do buňky vstupuje K^+ , Cl^- , malát, dále je štěpen škrob za vzniku osmoticky aktivních hexóz (glukózy). Do buňky vstupuje voda, zvyšuje se turgor a průduchová štěrbina se otevírá.

2.2.2 Vodivost průduchů

Míra otevření rostlinných průduchů je účinně regulovatelná a je ovlivněna více faktory. Mezi hlavní patří $[CO_2]$ v mezibuněčných prostorách, množství vody v rostlině, světlo a endogenní rytmicity (Pavlová, 2005). Měření stomatické vodivosti během střídání světla a tmy v různých časech ukázalo, že průduchy se opakovaně za světla otevírají a za tmy zavírají (Wheeler et al., 1999).

Pozorováním bylo zjištěno, že účinek velmi vysoké $[CO_2]$ nevyvolává nevratné změny ve vodivosti průduchů. Při dočasném umístění bramboru (*Solanum tuberosum*) pěstovaného při 400 nebo 1000 ppm do podmínek s $[CO_2]$ 10 000 ppm došlo za tmy ke zvýšení stomatické vodivosti. V opačném případě, kdy byl brambor rostoucí v $[CO_2]$ 10 000 ppm dočasně přemístěn do podmínek s 400 nebo 1000 ppm, vodivost poklesla. Podobně reagovaly také soja (*Glycine max*) a sladký brambor (*Ipomea batatas*). Ve všech případech návrat k původní $[CO_2]$ způsobil i návrat k původní vodivosti. Relativně vysoká vodivost naměřená v temných podmínkách u těchto tří druhů dvouděložných rostlin naznačuje, že světlo není nezbytně nutné k otevření průduchů (Wheeler et al., 1999).

Srovnání spodní a svrchní strany listu z hlediska poměru vodivosti průduchů bramboru, pšenice (*Triticum aestivum*), sóji a sladkého bramboru naznačuje, že vodivost průduchů spodní strany listu dvouděložných byla tři- až pětikrát vyšší než svrchní strany během osvětlené fáze. Opačně tomu bylo u zástupce jednoděložných rostlin. Průduchy svrchní pokožky pšenice měly mírně, jeden- až pětikrát vyšší

hodnoty vodivosti než průduchy na spodní straně listu (Wheeler et al., 1999).

S výjimkou sóji, poměr spodních ku svrchním průduchům poklesl za tmy při všech experimentálních úrovních $[CO_2]$. Pokles $[CO_2]$ neměl jednotný účinek na poměr vodivosti mezi svrchními a spodními průduchy listu za světelných podmínek pro pšenici a brambor, ale zapříčinil vzrůst tohoto poměru v temných podmínkách u bramboru (Wheeler et al., 1999).

2.3 Kvantifikace průduchů

Frekvence průduchů může být vyjádřena jako hustota průduchů, SD, nebo stomatální index, SI, (Smith et al., 2010), což jsou všeobecně uznávané charakteristiky určení množství průduchů na rostlině. Tohoto vyjádření se používá u všech rostlinných druhů.

- Hustota průduchů (stomatal density, SD). Hustota průduchů je měřena jako počet průduchů na 1mm^2 listové plochy. Je funkcí jak počtu průduchů, tak velikosti epidermálních buněk. Velikost epidermálních buněk je ovlivněna intenzitou světla, množstvím dostupné vody, pozicí listu na rostlinném těle i rozmístěním buněk na listu (Royer, 2001). Bylo pozorováno, že SD mladých listů je vyšší než SD dospělých listů. Pokud se počet epidermálních buněk mění, zároveň se změnou SD během růstu listu, SI zůstává nezměněn. Působí-li $[CO_2]$ na diferenciaci meristematických buněk, a tím na vznik stomat, hustota průduchů se změní bez současné změny hustoty epidermálních buněk a proto ovlivní SI (Ferris, Taylor, 1994).
- Stomatický index (stomatal index, SI) je definován jako množství průduchů dělené počtem průduchů plus množství epidermálních buněk krát 100:

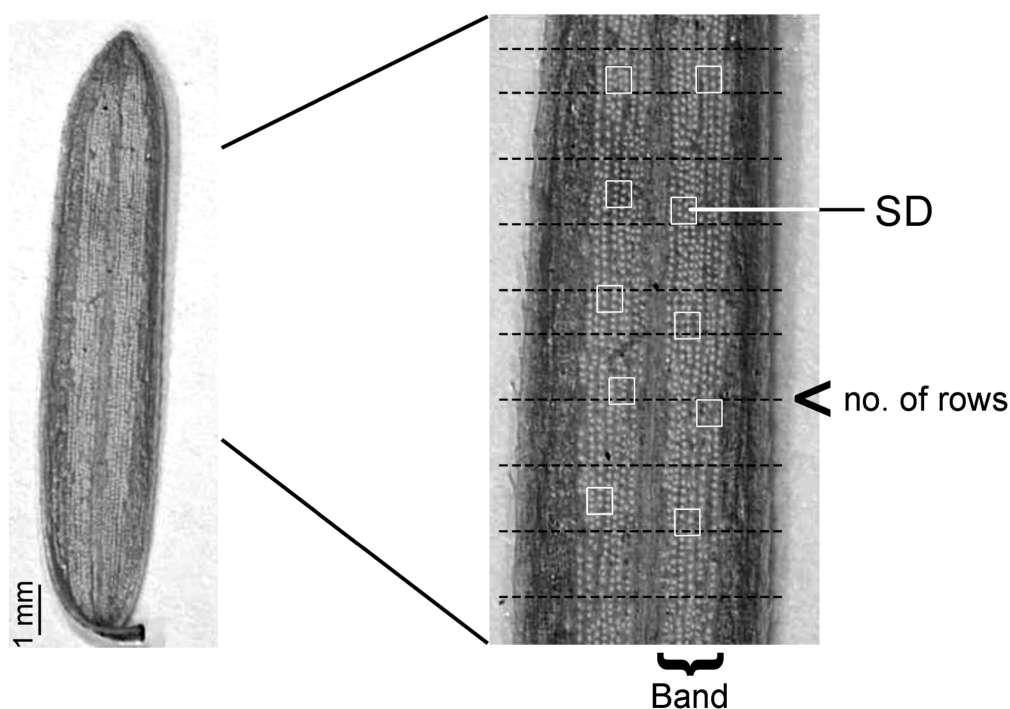
$$SI(\%) = \frac{\text{hustota průduchů}}{\text{hustota průduchů} + \text{hustota epidermálních buněk}} \cdot 100,$$

kde průduch je složen z průduchové štěrby a dvou svěracích buněk. Stomatický index minimalizuje vliv faktorů prostředí na frekvenci průduchů jiných než $[CO_2]$ (Hoof et al., 2006). Hoof et al. ve své studii zaznamenali, že uměle vytvořená změna hladiny spodní vody neovlivnila hodnotu SI u rodu *Q. robur*. Podobně Royer (2001) uvádí, že SI je citlivý pouze k faktorům, které ovlivňují zakládání buněk, kde $[CO_2]$ je jedním z těchto faktorů.

Ve studiích se setkáváme s ještě s dalšími vyjádřeními množství průduchů na listech, která jsou vytvořena pro skupiny rostlin se zvláštním uspořádáním průduchů. Jednou z takových skupin jsou jehličnany. Jejich průduchy jsou nashromážděné v řadách, které vytváří buď jednotlivé soubory, nebo pruhy (Kouwenberg et al., 2003). Kouwenberg et al. (2003)

se domnívají, že vyjádření frekvence průduchů na listech jehličnanů pomocí SD a SI není dobrou charakteristikou, proto zavádějí další proměnné.

- Průduchové řady (stomatal rows, SR). Tato proměnná udává počet řad průduchů v obou pruzích jehlice, Obr. 2.4. Šířka pruhu je výrazně závislá na počtu řad průduchů v pruhu a je vyjadřována spíše počtem řad průduchů než absolutní šířkou pruhu v milimetrech. U amfistomatických jehličnanů, např. *Picea glauca* jsou počítány řady na obou stranách jehlice (Kouwenberg et al., 2003).



Obr. 2.4: Spodní strana jehlice rodu *Tsuga heterophylla*, průduchy uspořádané v pruzích (Kouwenberg et al., 2003). Překlad: no.of rows, počet řad; band, pruh.

- Hustota průduchů na délku jehlice (stomatal density per lenght, SDL). $SDL = SD \times SR$. Tato funkce kombinuje hustotu průduchů v pruzích a šířku pruhů. SDL představuje vyjádření celkového počtu průduchů na milimetr délky jehlice. Protože šířka pruhu je vyjadřována nikoliv v milimetrech, ale počtem řad průduchů, pak SDL je vyjádřena na milimetry čtverčné (Kouwenberg et al., 2003).
- Počet průduchů na délku jehlice (stomatal number per lenght, SNL) Počet průduchů na délku jehlice je vyjádřen jako součet průduchů na svrchní i spodní straně jehlice dělený délkou jehlice v milimetrech (Kouwenberg et al., 2003).

- Skutečná hustota průduchů na délku jehlice (true stomatal density per lenght, TSDL). $TSDL = SD \times \text{šířka pruhu}$ v milimetrech. Zde se jedná o přesnější vyjádření počtu průduchů na jehlici v případě, že šířka pruhu byla stanovena v milimetrech místo počtem řad (Kouwenberg et al., 2003).
- Délka průduchové štěrby (pore lenght, PL) Tato hodnota je využívána k výpočtům maximální vodivosti průduchů. Délka průduchové štěrby je měřena v mikrometrech (Kouwenberg et al., 2004).

Přestože můžeme najít i jiná vyjádření popisující množství průduchů na listu, většina autorů používá SD a SI. Díky tomu je možné porovnávat výsledky jednotlivých prací.

2.4 Vývoj průduchů na rostlině

Množství průduchů na rostlině se liší mezi druhy navzájem, v rámci druhu podle místa výskytu, ale také mezi listy na těle rostliny (Tichá, 1982). Frekvence průduchů na listu může být ovlivněna také vnějšími podmínkami, více v kap. 2.4.3. Pro většinu rostlin je typická nepřítomnost průduchů nad cévními svazky. Důvodem může být snaha minimalizovat ztráty vody, nebo fakt, že fotosynteticky aktivní mezofylové buňky bývají zřídka přítomny v bezprostřední blízkosti cévních svazků (Casson, Gray, 2008).

2.4.1 Regulace tvorby průduchů

Řízení tvorby průduchů je spoluutvářeno více geny. Jedním z regulačních genů vývoje průduchů je TMM gen (too many mouth). Mutace v tomto genu vede ke vzniku velkého množství nahloučených průduchů. TMM gen především inhibuje dělení buněk stomatické linie, je tedy hojně exprimován v meristemoidech, jejich sesterských a dceřinných buňkách a rovněž v mateřských buňkách buněk svěracích (Casson, Gray, 2008).

Vznik průduchů je regulován jak negativní, tak pozitivní zpětnou vazbou (Kondo et al., 2009). Pozitivní signál regulace tvorby průduchů je vysíláný mezofylem a podporuje rozvoj průduchů, jedním z těchto regulátorů je pravděpodobně produkt genu STOMAGEN. STOMAGEN kóduje proteiny rodiny EPF (epidermal factor family), které jsou produkovány především buňkami mezofylu. Při zvýšené expresi tohoto genu dochází ke zvyšování SD u *Arabidopsis* (Kondo et al., 2009). Naopak negativní regulátory zakládání průduchů, proteiny EPF1, EPF2 jsou produkovány buňkami pokožky, které mají schopnost se asymetricky dělit a také buňkami, které tímto dělením vznikají. Oba proteiny mají schopnost tlumit tvorbu průduchů (Kondo et al., 2009), takže průduchy jsou na listu oddělené minimálně jednou epidermální buňkou. Bezprostřední blízkost průduchů by

znemožňovala jejich plnou funkci, navzájem by si vytvářely mechanickou zábranu k plnému otevření.

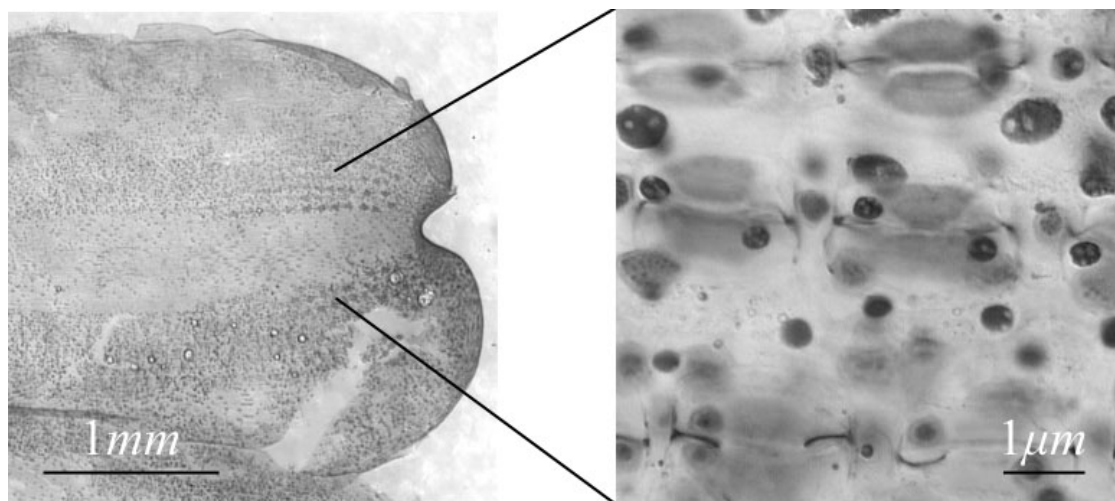
Dalším genem, který ovlivňuje tvorbu průduchů je gen HIC (gen pro vysokou $[CO_2]$). Porovnáním nukleotidové sekvence a sekvence aminokyselin v produktu bylo zjištěno, že gen HIC kóduje enzym velmi podobný 3-ketoacyl koenzym-A syntáze (KCS). KCS se podílí na prodlužování řetězců mastných kyselin, které jsou využívány pro syntézu vosků nebo kutinu. Poškození enzymu podobného KCS, kódovaného genem HIC, má za následek změny v propustnosti extracelulární matrix svěracích buněk. To vede ke změně v difúzi zvýšením CO_2 -stimulovaného morfogenu, zodpovědného za tvorbu průduchů. U hic mutanta dochází k narušení signalizační dráhy, ve které zvýšení $[CO_2]$ ovlivní vývoj průduchů. Pokud je exprese genu HIC redukována, pak rostliny při zvýšené $[CO_2]$ vykazují zvýšené stomatické indexy. Jestliže u divokého typu *Arabidopsis thaliana* (ekotyp C24) při zvýšené $[CO_2]$ dochází ke snížení SI nebo SD, případně se tyto indexy nemění, pak je pravděpodobné, že tento morfogen je negativním regulátorem vývoje svěracích buněk (Gray et al., 2000).

2.4.2 Zakládání průduchů nahosemenných a krytosemenných

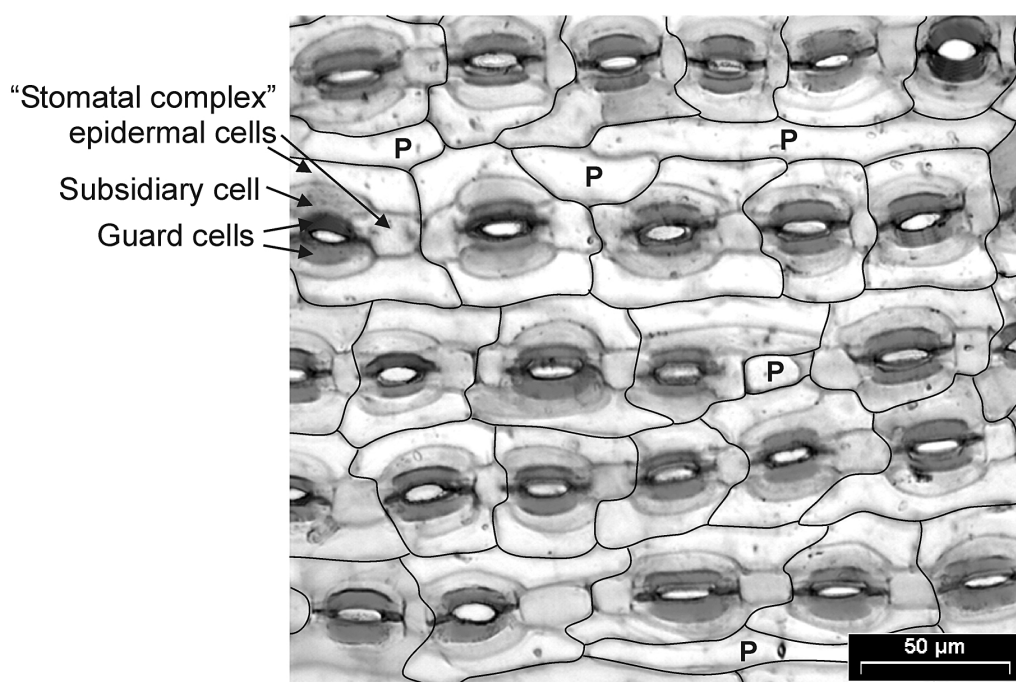
Zakládání průduchů mezi skupinami rostlin je odlišné, přesto můžeme pozorovat podobné znaky vývoje průduchů. Pro potřeby této práce shrnuji problematiku do dvou skupin, a to: rostliny nahosemenné s důrazem na jehličnany a rostliny krytosemenné rozdělené na jednoděložné a dvouděložné.

(i) Jehličnany

Vývoj listů, resp. jehlic u jehličnanů, se velmi podobá jednoděložným rostlinám. Jehlice se vyvíjejí lineárně z jednoho růstového centra na bázi listu. V růstovém centru vznikají v podélných souborech jak epidermální buňky, tak průduchy a vyvíjí se po celou dobu růstu jehlic. Průduchy jehličnanů se zakládají v časně fázi vývoje listu. U rodu *Tsuga heterophylla* se průduchy objevují v epidermis již ve fázi, kdy je jehlice ještě uvnitř pupenu, Obr. 2.5 (Kouwenberg et al., 2004). Svěrací buňky rodu *Pseudotsuga menziesii* nejsou zřetelné, dokud list nedosáhne $\frac{3}{4}$ své konečné velikosti (Owens, 1968). Průduchy obecně dospívají v době, kdy je list vzrostlý z 10-60% (Tichá, 1982). Buněčné prekursor průduchů se tvoří ve specifických řadách, Obr. 2.6. Řady jsou pak uspořádány do pruhů (např. *Tsuga heterophylla*) nebo tvoří jednotlivé soubory (*Larix laricina*) (Kouwenberg et al., 2003). Mezi řadami průduchů se tvoří epidermální buňky, ze kterých asymetrickým dělením vznikají podpůrné buňky průduchů (Kouwenberg et al., 2004).



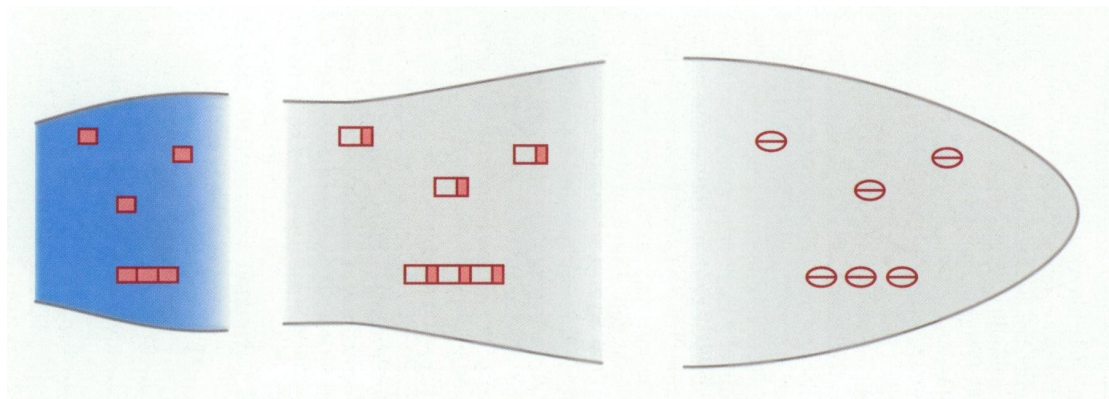
Obr. 2.5: Detail zakládání průduchů na jehlicích rodu *Tsuga heterophylla*, jedná se o jehlici, která raší z pupenu (Kouwenberg et al., 2004).



Obr. 2.6: Spodní strana jehlice rodu *Tsuga heterophylla*. Zobrazení uspořádání průduchů a epidermálních buněk v typických řadách. (Kouwenberg et al., 2003) Překlad: stomatal complex, průduchový komplex; epidermal cells, pokožkové buňky; subsidiary cell; podpůrná buňka; guard cells, svěrací buňky.

(ii) Jednoděložné rostliny

Listy jednoděložných rostlin, podobně jako kapradin a nahosemenných, mají polarizovaný růst. Oblasti dělení buněk, formace a růstu buněk jsou od sebe odděleny (Kouwenberg et al., 2004). List od vrcholu k bázi představuje záznam o vývoji průduchů. Buňky listové čepele i prekursory průduchů se zakládají na bázi listu. Zde se nachází prolifерující buňky, některé z nich dávají vzniknout průduchovým prekursorům. Prekursor se asymetricky rozdělí (dělení je orientováno kolmo na směr růstu listu), tím vznikne malá průduchová iniciála a velká epidermální buňka. Během dalšího růstu se průduchová iniciála rozdělí a diferencuje na 2 svěrací buňky (Croxdale, 2000), Obr. 2.7. V blízkosti vrcholu listu probíhá zvětšování a dozrávání buněk (Kouwenberg et al., 2004).



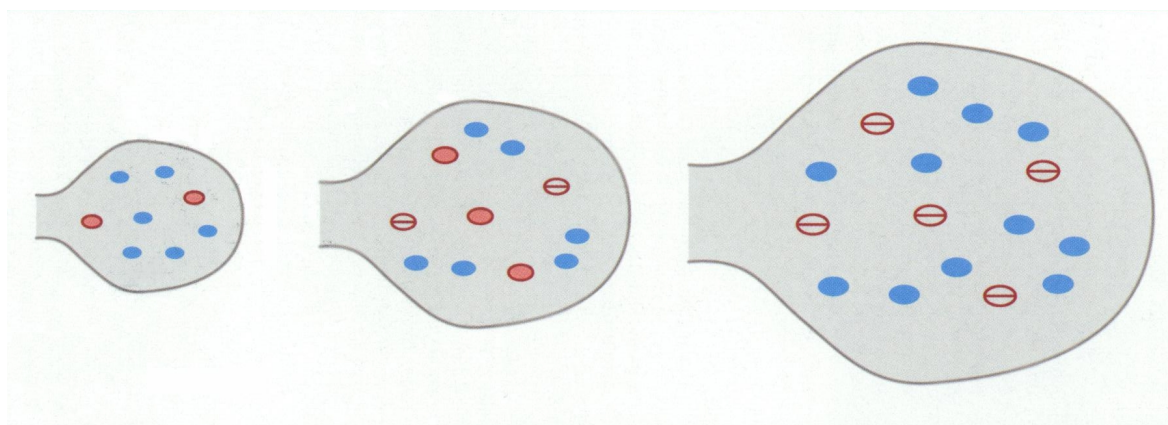
Obr. 2.7: Časový průběh zakládání a dozrávání průduchů rodu *Tradescantia*, zástupce jednoděložných rostlin. Na bázi listu se nachází prolifерující buňky (modře), některé z nich dávají vzniknout průduchovým prekursorům (červeně). Prekursor se asymetricky rozdělí, tím vzniká malá průduchová iniciála a velká epidermální buňka. Během dalšího růstu se průduchová iniciála rozdělí a diferencuje na 2 svěrací buňky (Croxdale, 2000).

(iii) Dvouděložné rostliny

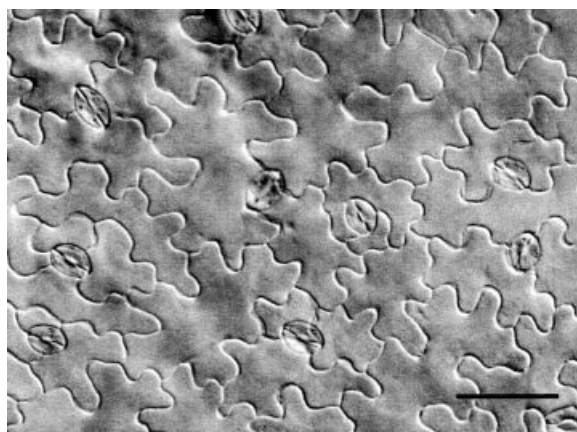
Listy krytosemenných dvouděložných rostlin mají rozptýlený růst. Průduchy se mohou vytvořit pouze z dělících se buněk, které se nachází ve vhodné fázi buněčného cyklu. Tyto prolifерující buňky jsou rozmístěny rovnoměrně po celém povrchu listu, Obr. 2.8 (Croxdale, 2000). Výsledkem je relativně nepravidelná distribuce průduchů na listu. Během rané fáze vývoje listu, kdy jsou buňky listových primordií multipotentní dochází u vybraných buněk k nesymetrickému dělení. Vzniká meristemoid a velká sesterská buňka. Meristemoid se může diferencovat v mateřskou buňku průduchu, nebo se znovu asymetricky rozdělí a vytvoří novou dvojici, meristemoid + sesterská buňka. Rovnoměrným rozdělením mateřské buňky průduchu vznikají dvě svěrací buňky (Casson, Gray, 2008). Dělením buněk se tedy zvyšuje hustota průduchů na listu (Kondo et al., 2010). Asymetrické dělení buněk, kterým jsou produkovány meristemoidy určuje umístění průduchů. Průduchy se nevytváří ve vzájemném kontaktu,

ale vždy jsou odděleny alespoň jednou pokožkovou buňkou, jak je vidět na Obr. 2.9. Většina průduchů rodu *Arabidopsis* je obklopena třemi podpůrnými buňkami, které spolu s průduchem vytváří průduchový komplex (Serna, Fenoll, 2000).

Průduchy a meristemoidy na svrchní straně listu rodu *Arabidopsis* jsou ve většině případů při zakládání průduchů umístěny přímo nad spoji několika mezofylových buněk, to naznačuje, že stanovení pozice průduchů, vzhledem k vrstvě buněk pod epidermis, je určeno ve velmi rané fázi vývoje průduchů (Serna, Fenoll, 2000).



Obr. 2.8: Zakládání průduchů rodu *Arabidopsis*, zástupce dvouděložných rostlin. Buňky dávající vznik průduchům (proliferující) jsou znázorněny červeně, modře jsou centra, ze kterých průduchy nevznikají (Croxdale, 2000).



Obr. 2.9: Rozmístění průduchů na adaxiální straně plně rozvinutého listu rodu *Arabidopsis* (Serna, Fenoll, 2000). Měřítka 80 μm .

Počet průduchů na list u hybridní rostliny topolu (*Populus trichocarpa* x *Populus deltoides*) rychle vzrůstal současně se zvětšováním listové plochy, konečné množství průduchů na listu bylo přítomno v době, kdy list dosáhl přibližně $\frac{1}{2}$ své konečné velikosti. SD pak klesala se zvětšováním listové plochy bez současné změny počtu průduchů (Myiazawa et al., 2006).

2.4.3 Faktory ovlivňující zakládání průduchů

Průduchy se na listech vyvíjí pod vlivem mnoha okolních faktorů. V této podkapitole se zabývám těmi, které nejvýznamněji určují počet a velikost průduchů na listech rostlin: přirozená variabilita rostlin, dostupnost vody, intenzita světla, teplota, $[CO_2]$ v okolí listu a relativní vlhkost vzduchu.

a) Přirozená variabilita rostlin

Množství průduchů je charakteristickou hodnotou pro jednotlivé druhy rostlin. Obecně můžeme říct, že hustota průduchů roste od báze listu k vrcholu (Tichá, 1982), primárně jako důsledek snižujícího se vodního potenciálu. Podobně také od středu listu k okraji hustota průduchů klesá. Tento rozdíl ovšem nebývá příliš významný (Royer, 2001).

Většina dřevin je hypostomatická s průduchy pouze na spodní straně listu, bylinné druhy jsou obecně amfistomatické, mají tedy průduchy jak na spodní tak na svrchní straně listu (Fujinuma et al., 1985), přičemž hustota průduchů je vyšší na spodní straně listu (Willmer, Fricker, 1996).

b) Dostupnost vody

Pokud má rostlina dostatek vody, tvoří velké epidermální buňky. Snižovaný vodní potenciál podporuje projevy xerofytních vlastností rostliny, v důsledku toho vznikají menší epidermální buňky a dochází ke zvýšení SD (Royer, 2001).

Pozitivní vazba mezi SI svrchních listů a stomatickou vodivostí spodních dospělých listů naznačuje, že stomatická vodivost zralých listů reguluje spolu s dalšími faktory vývoj nových listů (Miyazawa et al., 2006).

c) Ozáření a teplota

Je známo, že vztah mezi ozářeností rostliny a hodnotami SD a SI je pozitivní (Tichá, 1982). Srovnání množství průduchů rodu *Quercus robur* na listech vytvořených při vyšších letních teplotách a v chladnějším jarním období ukázalo, že SI a SD vykazují nižší hodnoty pro letní listy. To je pravděpodobně způsobeno snahou rostliny omezit ztráty vody při vytváření listů, když relativní vzdušná vlhkost i dostupná půdní voda dosahují svých minimálních hodnot. Z pozorování Beerling, Chaloner (1993) vyplývá, že teplota je oproti intenzitě světla významnějším faktorem, co do určení hustoty průduchů.

d) Vzdušná relativní vlhkost

Vysoká vzdušná relativní vlhkost je signálem pro zvýšení citlivosti průduchů ke $[CO_2]$. V přirozených podmínkách je tento mechanismus výhodný pravděpodobně k přizpůsobení k růstu v hustém porostu, kde je nízká ozářenost, snížená $[CO_2]$ a vyšší relativní vlhkost (Talbot et al., 2003). Průduchy rostlin rostoucích při relativní vlhkosti vyšší než 85% zmenšovaly výrazněji průduchovou šterbinu při postupném zvyšování

[CO₂] z 400 na 900 ppm, ve srovnání s rostlinami pěstovanými při vzdušné vlhkosti nižší než 55% (Talbot et al., 2003).

e) Koncentrace CO₂

Změna frekvence průduchů v reakci na odlišnou [CO₂] závisí na rostlinném druhu, stáří listu a stávajících růstových podmínkách (Miyazawa et al., 2006). Očekávání, že průduchy na nově vznikajících listech se vytváří v odpovědi na aktuální [CO₂], která obklopuje tělo rostliny, nepotvrzuje studie Miyazawa et al. (2011). Podle jejich výsledků je frekvence průduchů nově vznikajících listů řízena signály, které přichází ze spodních dospělých listů rostliny (Miyazawa et al., 2011). Tyto signály jsou však určujícím faktorem pouze v časných fázích rozvoje listu (Miyazawa et al., 2006). To potvrzuje také Royer (2001). Tvrdí, že [CO₂] silně ovlivňuje zakládání průduchů na začátku vývoje listu, a to více než zvětšování epidermálních buněk během růstu listu. Na podobný fakt poukazují Ferris, Taylor (1993): [CO₂] ovlivňuje meristematické dělení a specializaci buněk během časných fází růstu listu.

Kapitola 3

Průduchy a měnící se atmosferická koncentrace CO₂

3.1 Odhady koncentrace CO₂ v atmosféře minulosti

Všechny odhady množství CO₂ v atmosféře minulosti, jsou založeny na stejném principu. V systému Země je zvolen charakteristický znak, který koreluje s koncentrací CO₂ v současnosti a který může být spolehlivě měřen v horninách či fosíliích. Tento znak je kvantifikován pro současnost a vztah mezi tímto znakem a [CO₂] je následně aplikován na minulé období. (Royer, 2006)

Následující měření se ukázaly v posledních letech jako nejpřesnější:

- analýza vzduchových bublin uzavřených v ledovcích (Nátr, 2000),
- stanovení izotopu uhlíku ¹³C z pedogenních minerálů (Cerling, 1991),
- stanovení izotopu ¹³C v játrovkách, Bryophyta (Fletcher et al., 2005),
- stanovení izotopu boru v uložených schránkách dírkonošců (*Foraminifera*) a následné určení pH mořské vody. Odhad CO₂ pomocí této metody je stanovován v časovém rozpětí posledních 60miliónů let (Pearson, Palmer 2000),
- stanovení stomatálních parametrů na listech rostlin,
- geochemické modelování změn [CO₂], např model GEOCARB (Berner, Kothavala, 2001). GEOCARB je jedním z modelů geochemických cyklů. Byl vytvořen s důrazem na faktory ovlivňující zvyšování a snižování atmosferického CO₂. Jedná se především o děje spojené s kontinentálním zvětráváním, vulkanickým odplyněním a ukládáním organického uhlíku na dně oceánů v časovém měřítku 10⁶ a 10⁵ let. Tento model podává informace o množství CO₂ pro celé geologické období Phanerozoika. Nejkratším časovým úsekem v časové škále modelu je 10 miliónů let, což znamená, že změny odehrávající se v kratším období záznamy modelu neovlivňují (Smith et al., 2010).

3.2 Vliv koncentrace CO₂ na vodivost průduchů, na SD a SI

Množství CO₂ více či méně ovlivňuje stomatickou vodivost SI a SD rostliny. Následující kapitola naznačuje, jaké trendy se v reakci na změnu koncentrace CO₂ u rostlin objevují.

3.2.1 Vodivost průduchů

Co se týče vodivosti průduchů, lze obecně říci, že s vyšší [CO₂] se vodivost snižuje (Myiazawa et al., 2011). U jehličnanů nacházíme méně výrazný pokles vodivosti průduchů v odpovědi na dlouhodobé vystavení zvýšené [CO₂], než u druhů krytosemenných. Protože celková vodivost průduchů listu je zčásti určena počtem průduchů na povrchu listu, mohou se teoreticky rozdílné odpovědi na [CO₂] týkat rozdílů v uspořádání průduchů na listech (Croxdale, 2000).

Studie Lammertsma et al. (2011) určovala maximální možnou stomatickou vodivost (g_{max}) několika jehličnanů, krytosemenných rostlin a jedné kapradiny. g_{max} byla modelována na základě anatomických parametrů, empiricky zjištěných vztahů a fyzikálních vlastností vody a CO₂. Pro určení maximální možné stomatické vodivosti byl uvážen také rozdílný evoluční vývoj druhů rostlin. Obecně lze říci, že krytosemenné rostliny měly v minulosti více malých průduchů s vysokou g_{max} , zatímco jehličnany a kapradiny měly málo velikých průduchů a nižší maximální stomatickou vodivost. Přestože evoluční přizpůsobení je jiné, výsledky studie ukazují jednotný pokles stomatické vodivosti všech studovaných druhů v závislosti na rostoucích hodnotách [CO₂] v rozmezí 280ppm až 400ppm. Rostlinný materiál, který byl zde použit spadá do časového období 1800 až 2010 (Lammertsma et al., 2011).

Pozorovaná vodivost průduchů je nižší u všech rostlin pěstovaných za vyšší [CO₂], ve srovnání s rostlinami, které rostou v současných úrovních koncentrace CO₂. Důvodem může být oddálení a zmírnění stresové reakce vyvolané suchem. Na rozdíl od C3 rostlin, C4 budou mít výhody ze zvýšené [CO₂] jen v době a na místě stresu ze sucha. Pokles průduchové vodivosti C4 rostlinných druhů, pozorovaný při zvýšené koncentraci CO₂, snižuje celkovou vodní spotřebu, díky níž je uchovávána půdní vlhkost a dochází ke zvýšení teploty listů. Při nedostatku vody, by tedy mohla zvýšená [CO₂] oddalovat nápor stresu z vyčerpání půdní vlhkosti a také zmírňovat snížení rychlosti fotosyntézy kvůli nižší intracelulární koncentraci CO₂, která vznikla snížením průduchové vodivosti v důsledku sucha (Leakey 2009).

Zvýšená [CO₂] zvyšuje výnosy u C3 rostlin pomocí stimulované fotosyntézy, redukované fotorespirace a nižší stomatické vodivosti. Přirozená odpověď C4 rostlin na zvýšenou [CO₂] je spornější. Současné studie z projektu FACE¹ podporují argument, že C4 fotosyntéza není přímo stimulována zvýšenou [CO₂] (Leakey, 2009).¹

Ipomoea pes-caprae L. Je homobarická² rostlina. Byla u ní zkoumána regulace otevírání průduchů na listu v odpovědi na změny [CO₂]. Pozorovaná regulace nebyla významná mezi svrchní a spodní pokožkou

1 FACE (free-air CO₂ enrichment), velkoplošné experimenty, které studují vliv zvýšené [CO₂] na růst a produktivitu rostlin za minimálního narušení mikroklimatu, ve kterém rostliny rostou (Nátr, 2000).

2 Homobarické rostliny mají mezibuněčné prostory uspořádané tak, že tvoří jeden souvislý celek.

listu. Odlišná odpověď, ale byla nalezena mezi sousedními průduchy na povrchu listu. To může naznačovat, že reakce průduchů na změnu [CO₂] úpravou vodivosti průduchů je nezávislá na přítomnosti cévních svazků (Kamakura, Furukawa, 2007).

3.2.2 Stomatální index, hustota průduchů - jejich změny při různé koncentraci CO₂

Změna frekvence průduchů na listech rostlin při změně [CO₂] je častá, jednotnost ve směru, kterým se tato hodnota mění, však není jednoznačná. Výsledky jednotlivých studií jsou do jisté míry protichůdné, u některých druhů nacházíme negativní vztah mezi počtem průduchů a [CO₂]. Pozitivní vztah mezi těmito dvěma proměnnými ale i necitlivost některých druhů vůči vnější [CO₂] nejsou výjimkou.

Počty průduchů mohou vykazovat lineární závislost při koncentracích pod současnou úroveň [CO₂], ale nad touto hodnotou je počet průduchů lineárně závislý na [CO₂] stále méně (Haworth et al., 2010). Charakter změn ve frekvenci průduchů vyvolaných odlišnou [CO₂] lze často popsat nelineárními závislostmi.

V následující části je pojednáno o reakci rostlin na změny [CO₂]. Pro potřeby této práce je rozčleněna na jehličnany a rod *Ginkgo* a krytosemenné rostliny.

(i) Jehličnany a *Ginkgo*

Reakce jehličnanů na koncentraci CO₂ úpravou frekvence průduchů je druhově specifická.

Třetihorní skupina cypřišovitých prosperovala během období mesozoika, které je charakteristické vysokou [CO₂]. Druh *Tetraclinnis articulata* vykazoval významnou redukci indexu SI při rostoucí [CO₂] v rozmezí 280 - 380ppm, SD tohoto druhu se při stejných podmínkách neměnila. Rod *Callitris* nevykzoval žádnou významnou spojitost mezi [CO₂] a parametry SI a SD. Vztah mezi SI a [CO₂] nebyl nalezen ani u jiných druhů, které jsou *Callitris* podobné listovou morfologií a ekotypem (Haworth et al., 2010).

Kouwenberg et al. (2003) uvádí výrazný pokles SD čtyř studovaných druhů, *Picea marina*, *Picea glauca*, *Larix laricina* a *Tsuga heterophylla*, při nárůstu [CO₂] z 290 na 370ppm během posledního století. Podobné odpovědi, nachází také pro fosilní druhy listnatých dřevin. Ačkoliv SD se výrazně mění, SI druhů *Tsuga heterophylla*, *Picea marina* a *Picea glauca* se zvyšující se [CO₂] neklesá. Uvedená neshoda mezi indexy SD a SI může být vysvětlena rozdílným způsobem vývoje průduchů mezi druhy jehličnanů (Kouwenberg et al., 2003). Vystavení druhů rodu *Pinus* zvýšené [CO₂] (750ppm) vedlo k redukci SD obou povrchů jehlic (Lin et al., 2001).

Pro rod *Ginkgo biloba* byla v experimentálních studiích nalezena nepřímá úměra ve vztahu SD a SI ke [CO₂]. Podobné výsledky poskytly studie, které pracovaly s herbářovým materiálem vytvořeným v posledních 150 letech, ve kterých je [CO₂] známá. *Ginkgo* z období triasu a jury (145-251 Ma) vykazuje podobné frekvence průduchů jako byly zjištěny u současného *Ginkgo biloba* pěstovaného při zvýšené [CO₂] 560 ppm a významně nižší frekvenci průduchů ve srovnání s *G. biloba* rostoucím při současné [CO₂] (Smith et al., 2010)

Výsledky Lammertsma et al. (2011) zaznamenávají jednotný pokles SD všech druhů, které byly do studie zahrnuty. Z výsledků však vyvozuje závěr, že nahosemenné vykazují výrazně silnější pokles v SD než jaká byla pozorovaná u krytosemenných.

Některé studie popisují u jehličnanů tzv. „strop odpovědi CO₂“. Jednotlivé druhy rostlin jsou adaptovány k určitému rozpětí [CO₂], na které jsou schopny reagovat. Nejvyšší koncentrace tohoto rozpětí představuje „strop odpovědi CO₂“. U mnoha druhů nahosemenných se strop objevuje při 325-350 ppm (Kürschner, 1997). Chování jehličnanů může být způsobeno tím, že se v minulosti nesetkaly s koncentrací vyšší než 350ppm (Pagani, et al., 1999). Podobné závěry uvádí Gerhart, Ward, (2010), kteří usuzují, že rostliny mohou mít již zcela vyčerpanou schopnost odpovídat na vzrůstající [CO₂] přizpůsobením počtu průduchů (Gerhart, Ward, 2010). Kouwenberg et al. (2003) uvažují strop odpovědi v poněkud rozdílných hodnotách CO₂. V jejich studii bylo pozorováno, že druhy *Picea marina*, *Picea glauca* a *Tsuga heterophylla* při [CO₂] 370ppm ještě nedosáhly svých odpovědních limitů. Vyvozují, že tyto druhy jehličnanů jsou vhodné k odhadům CO₂ pro období, kdy [CO₂] byla výrazně vyšší, než je dnes. Podobně také Haworth et al. (2010) naznačuje, že některé starobylé jehličnany vykazují malou změnu SI při koncentracích podobných současné úrovni [CO₂], ale mohou odpovídat na vyšší [CO₂]. Proto je pokládá za vhodné k rekonstrukcím CO₂ pro období, s vysokou koncentrací CO₂, přibližně do 400ppm.

Nedostatečné snížení počtu průduchů v reakci na zvýšenou koncentraci CO₂, může vypovídat také o tom, že frekvence průduchů některých druhů jehličnanů není k CO₂ příliš citlivá, případně je třeba uvážit to, zda provedené experimenty nebyly vykonány při úrovních [CO₂], které odpovídají nadlimitním hodnotám pro adaptační schopnosti daných rostlin (Kouwenberg et al., 2003).

(ii) Krytosemenné

Podobně jako u výše zmíněných druhů, také krytosemenné rostliny reagují nejednotně na změny [CO₂] co se změn ve frekvenci průduchů týče. Zásadní rozdíl můžeme pozorovat mezi C3 a C4 rostlinami.

Vystavení zvýšené [CO₂] mělo rozdílný efekt na SI ve studii čtyř bylinných druhů (Ferris, Taylor, 1994). U *Sanguisorba minor* Scop. zvýšená [CO₂], 590 ppm, způsobila pokles SI na obou stranách listů. U druhu *Lotus corniculatus* L. nedošlo k žádné významné změně SI při zvýšení CO₂. Druh *Anthyllis vulneraria* L. nezměnil SI na svrchní straně listů při zvýšené koncentraci CO₂, ovšem na spodní straně došlo k redukci SI. U druhu *Plantago media* L. SI svrchního povrchu listu při zvýšené [CO₂] poklesl. Odpověď SD byla odlišná. SD *L. corniculatus* vzrostla významně, u rodu *S. minor* došlo také ke zvýšení SD. Zatímco u rodu *P. media* poklesla SD na obou stranách listu a u rodu *A. vulneraria* poklesla SD pouze na spodní straně listu (Ferris, Taylor, 1994).

Listy *Quercus robur* přirozeně rostoucí při zvyšující se [CO₂] posledních dvou století získané z herbářových položek a z opadu vykazují pokles SI, který je srovnatelný s trendem vzrůstu [CO₂]. Hodnota SI rodu *Q. robur* se nad [CO₂] 325 ppm neměnila (Hoof et al., 2006). Jednotný pokles SD krytosemenných druhů v odpovědi na zvyšující se [CO₂] od roku 1800 do roku 2010 zaznamenali také Lammertsma et al. (2011).

Nejen anatomické, ale i fyziologické rozdíly mezi rostlinami jsou určující pro rekonstrukce CO₂. Krytosemenné rostliny dělíme na základě rozdílu v primární fixaci CO₂ na C₃ a C₄ rostliny. C₃ rostliny fixují CO₂ v houbovitém a palisádovém mezofylu, kde koncentrace CO₂ odpovídá přibližně 70% atmosferické úrovni (Royer, 2001). Tato vnitřní koncentrace je udržována i při výkyvech v vnější koncentraci atmosferického CO₂. Průduchy C₃ rostlin jsou tedy citlivé k hodnotám vnější [CO₂].

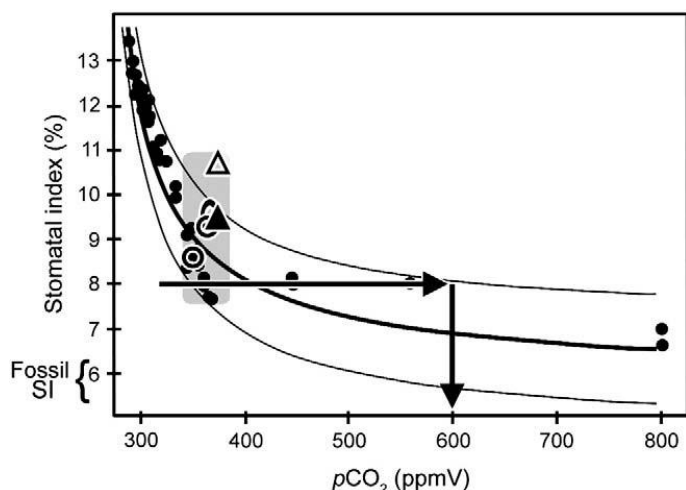
C₄ rostliny fixují CO₂ v buňkách pochev cévních svazků. Endodermis obklopuje buňky pochev cévních svazků a vytváří vysoce neprostupnou bariéru pro CO₂. [CO₂] v těchto buňkách dosahuje hodnoty až 2100 ppm (Nátr, 2000). Z předpokladu, že průduchy jsou zakládány pomocí mechanismu, který je ovlivněn množstvím CO₂, vyplývá, že změna koncentrace CO₂ by měla mít malý vliv především na hodnoty SI. To ovšem Royer (2001) vyvrací. Ve studii se uvádí, že z devíti zkoumaných C₄ druhů rostlin, pouze jeden odpovídal inverzní změnou indexů k [CO₂]. Z těchto důvodů označuje C₄ rostliny jako nevhodné ke stanovování paleo - atmosferické[CO₂].

3.2.3 Odhad [CO₂] pomocí SD, SI, výhody a nevýhody

Odhad koncentrace CO₂ pomocí SD a SI s sebou nese mnohé nevýhody, přesto je tato metoda považována za velmi přesnou (Royer, 2001) a využívá se jí k upřesnění odhadů geochemických modelů.

K odhadům [CO₂] jsou na základě hodnot SI fosílií, herbářových položek a současných rostlin vytvořeny kalibrační řady. Lineární vztah mezi [CO₂] a frekvencí průduchů není u mnoha druhů nalezen. Tak tomu bylo také v případě dat získaných pro *Ginkgo*, kdy závislost mezi frekvencí průduchů

a koncentrací CO₂ byla popsán nelineární funkcí, jak vidíme na Obr. 3.1 Pro hodnoty SI nižší než 8% v tomto případě odhad [CO₂] už není možný. Je velmi pravděpodobné, že v okolí této hodnoty se projevuje „strop odpovědi“ rodu *Ginkgo* (Smith et al., 2010).

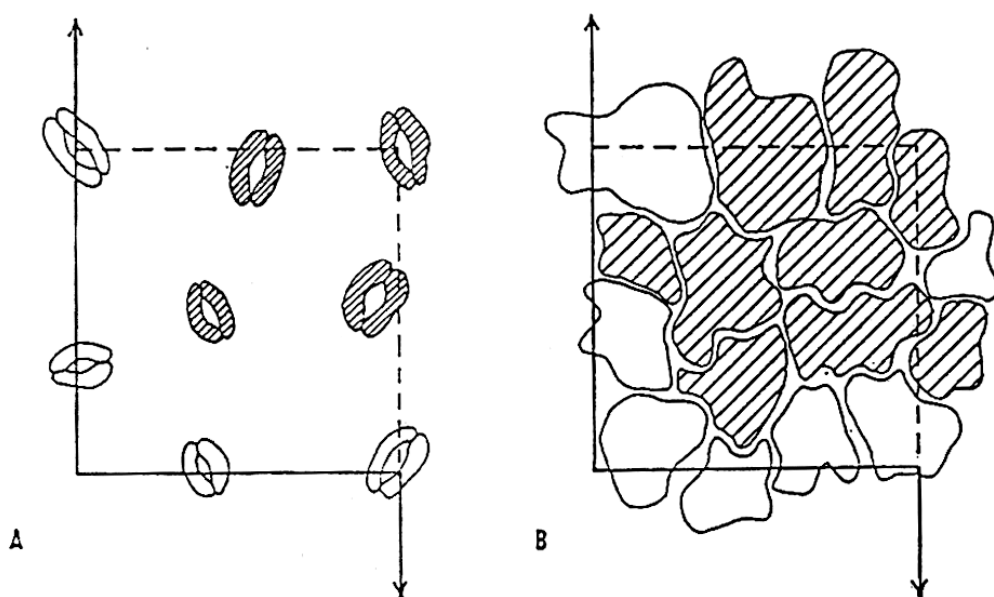


Obr. 3.1: Kalibrační řada rodu *Ginkgo* pro odhady [CO₂]. Šipky naznačují, že odhad [CO₂] pro SI nižší než 8% by byl značně nepřesný (Smith et al., 2010).

K fosilním druhům, které jsou při odhadech [CO₂] používány je třeba přiřadit druh ze současné flóry, který nese označení „blízký žijící ekvivalent“. Blízký žijící ekvivalent je posuzován z hlediska morfologie, taxonomie a/ nebo ekologie. Nakolik je to možné, měly by se jednat o jeden rostlinný druh, který se ideálně vyskytuje na stejných stanovištních podmínkách, například *Ginkgo biloba* je ve studiích určen za analog fosilního *Ginkgo adiantoides*. Stomatální index blízkých žijících ekvivalentů je pak je pak společně s SI fosilních rostlin použit v jednom datovém souboru pro určení vztahu SI a [CO₂] (Smith et al., 2010). Přestože výběr blízkého žijícího ekvivalentu může být proveden velmi pečlivě, je nutné zahrnout předpoklad, že druhy odrážejí plasticitu svých genů a mohou vykazovat jiné chování než jejich fosilní analogy (Royer, 2001).

Podle pozorování jsou téměř všechny druhy schopné odpovědi na změnu koncentrace v časovém měřítku větším než 10² let, které je vhodné pro většinu rekonstrukcí [CO₂], využívající fosilní druhy rostlin. Pouze 40 - 50% druhů je schopno reagovat v časovém měřítku měsíců až stovek let (Royer, 2001). Některé druhy jsou uváděny jako velmi vhodné pro rekonstrukce [CO₂]. Např. jehličnany, kvůli citlivé odpovědi v širokém rozmezí [CO₂] a velké kapacitě uchování fosilních jehlic, k rekonstrukcím paleoatmosferické [CO₂] (Kouwenberg et al., 2003), nebo zbytky listů *Quercus robur*, samostatně nebo v kombinaci s *Quercus petrae*, uložené v jezerech a rašeliníštích pro kvantifikaci úrovně [CO₂] v době před průmyslovou revolucí (Hoof et al., 2006).

Pro získávání experimentálních dat jsou stanovena určitá pravidla, která by měla být dodržena. Jedná se zde především o pravidlo sčítání dvourozměrných anatomických objektů. Nevychýleného odhadu dosáhneme pomocí vzorkovacího okénka s vylučovacími liniemi. Vzorkovací okénko je buď čtvercové nebo obdélníkové. Spodní a levá strana jsou ohraničeny plnou čarou, horní a levá strana čerchovanou čarou. Objekty, které jsou uvnitř okénka nebo jsou protnuty čerchovanou čarou jsou pro dané okénko započítány. Nezapočítávají se objekty mimo vzorkovací okénko a objekty protnuté plnou čarou, jak je znázorněno na Obr. 3.2 (Gundersen, 1977). Tato metoda dociluje započítání každého objektu pouze jedenkrát. V některých studiích se autoři tímto pravidlem neřídí. Např. Smith et al. (2010) započítává průduch nebo pokožkovou buňku na rozhraní vybrané plochy tehdy, když její vybraná část tvoří více než polovinu celkové plochy buňky. Tím do výsledků vnáší chybu - toto kritérium je neobjektivní, protože jednotliví pozorovatelé se budou lišit v odhadu poloviny průduchu. Je také pravděpodobné, že některé objekty budou tímto způsobem započítány dvakrát.



Obr. 3.2: K určení nevychýleného odhadu anatomických dvourozměrných objektů se využívá vzorkovacího okénka s prodlouženými vylučujícími čarami. Objekty, které jsou protnuty čerchovanou čarou a ty, které jsou uvnitř okénka jsou započítány (znázorněny šrafování), objekty protnuté plnou čarou a objekty mimo okénko započítány nejsou (Gundersen, 1977).

Vyjádření SI, SD není vždy snadné. Například na listech *Ginkgo biloba* jsou přítomné papily, které mají tendenci zakrývat buněčná rozhraní a znemožňují spočítat přesné množství epidermálních buněk, naproti tomu průduchy jsou zcela zřetelné. Přítomnost papil byla pozorována i u fosilního druhu *Ginkgo adiantoides*. Z tohoto důvodu je snazší vyjádřit

celkový počet průduchů na listovou plochu, tedy SD. Toto vyjádření se jeví jako méně náchylné k vnesení chyby pozorovatelem, a pravděpodobně proto se uváděné hodnoty více shodují napříč studiemi i metodami (Smith et al., 2010). Přestože se většina autorů shoduje v názoru, že SI je nejpřesnějším vyjádřením závislosti množství průduchů na [CO₂], v tomto případě není možné tento index používat právě kvůli nezřetelnému rozhraní epidermálních buněk.

Další nevýhodou druhu *Ginkgo biloba* je přítomnost dvojího typu listů. Listy na dlouhých výhonech se vyvíjí v jedné růstové sezóně, zatímco listy na krátkých výhonech se vyvíjí z přezimujících pupenů (Chen et al., 2001). Bylo zjištěno, že frekvence průduchů těchto listů je rozdílná. Je proto třeba rozlišit frekvenci průduchů krátkých a dlouhých výhonů, a to buď vytvořením průměrné hodnoty obou typů frekvencí, nebo výběrem pouze jednoho listového typu ke stanovení [CO₂] (Smith et al., 2010). Při vytváření experimentálních souborů je třeba odlišit morfologické varianty listů současných druhů a nakolik je to možné také fosilií, protože v případě malých experimentálních souborů listů by jeden odlišný list mohl dramaticky ovlivnit výsledky odhadu [CO₂] (Smith et al., 2010).

Hodnoty k určení SD a SI jehličnanů jsou získávány nikoliv po celé ploše listu, ale pouze v průduchových pruzích za použití vzorkovacích okének. Uspořádání průduchů druhu *Larix laricina* v oddělených souborech po celém povrchu jehlice omezuje dohodnuté použití malých sčítacích políček k určení SD. Protože různost počtu řad nemůže být plně zachycena, u tohoto druhu je frekvence průduchů vyjádřena jako počet průduchů na 1 milimetr délky jehlice (Kouwenberg et al., 2003).

Pro experimentální podmínky jsou voleny nejrůznější [CO₂], často je prováděno jednokrokové navýšení, většinou zdvojnásobením [CO₂]. Reakce rostlin na takovou změnu podmínek ovšem nemusí vypovídat mnoho o přirozeném chování rostlin. Jak víme, změny koncentrace v atmosféře Země, dosahují hodnot 1 - 2 ppm za rok nebo za růstovou sezónu. Herbářové a fosilní položky mají proto velkou přednost před experimentálními, protože se vyskytovaly na rostlinách za přirozených podmínek a projevíly přirozenou reakci (Kouwenberg, 2003).

Nejednotnost výsledků SD a SI u stejných rostlinných druhů může být spojena s různými růstovými podmínkami, především intenzitou světla a vlhkostí, které významně ovlivňují vývoj průduchů a epidermálních buněk (Myiazawa et al., 2006). Podobně uvádí Kouwenberg et al. (2003), že při hodnocení výsledků experimentů musí být uváženo, zda odchýlení SD není důsledkem lokálních změn dostupnosti vody v půdě. Přesto SI by měl podávat přesnější odhad [CO₂], protože je ovlivněn okolními faktory pouze při zakládání buněk, na rozdíl od SD (Royer, 2001).

Závěr

Rostliny, ze své podstaty živých struktur, reagují na změny $[\text{CO}_2]$. Jejich odpovědi jsou však značně variabilní. Rozdíly v reakcích na změny $[\text{CO}_2]$ jsou pozorovány nejen mezi druhy, ale také v rámci rostlinného těla mezi svrchní a spodní pokožkou listu. Pokud se zaměříme na jednotlivé rostlinné skupiny, můžeme u nich pozorovat určité tendence v úpravách počtu průduchů při změně $[\text{CO}_2]$.

Nahosemenné rostliny a především jehličnany ve výsledcích studií vystupují jako citlivé k $[\text{CO}_2]$. Autoři se ovšem liší v názoru, zda jsou vhodné k odhadům $[\text{CO}_2]$ pro období s nižší či vyšší úrovní, než jaká je dnes.

Pozorujeme-li změnu v počtu průduchů krytosemenných, zdají se být méně citlivé k $[\text{CO}_2]$. Skupina C_4 rostlin je popisována jako nevhodná k určování hladin $[\text{CO}_2]$ pro specifický způsob hospodaření s oxidem uhličitým.

K odhadům paleoatmosferické $[\text{CO}_2]$ se ukazují jako vhodné některé druhy kvůli dlouhé životnosti fosilního materiálu (např. druhy jehličnanů, jejichž jehlice se rozkládají pomaleji než listy jiných druhů), jiné pro dostatečné zásoby fosilního materiálu z dlouhých časových období v jezerních a rašeliništních usazeninách (např. *Ginkgo*, *Quercus*).

Vyjádření množství průduchů na listu je ve studiích vždy uvedeno pomocí hodnot SI nebo SD. Tím je zajištěna možnost porovnávat výsledky jednotlivých studií. Shoda panuje v názoru, že SI je nejpřesnějším vyjádřením množství průduchů na listu. V některých případech, není možné SI stanovit (rod *Ginkgo*), pak je uváděna pouze SD.

Kvůli zmíněným nevýhodám je tato metoda využívána pouze k upřesnění odhadů $[\text{CO}_2]$ založených na geochemických modelech. Objev závislosti počtu průduchů na listu na atmosferické $[\text{CO}_2]$ zvýšil naše porozumění paleoklimatu, protože díky odhadům získaných z fosilií listů můžeme určit $[\text{CO}_2]$ mnohem starších období než z ledových jader. Parametry SD a SI tak poskytují v kombinaci s odhady $[\text{CO}_2]$ z izotopů uhlíku rozumné odhady, pomocí nichž můžeme zhodnotit přesnost klimatických modelů (J. Pittermann, 2010). Vyšší porozumění klimatu v minulosti nám také může usnadnit odhad, jakým se bude vyvíjet klima v dalších desítkách let.

Zdroje a použitá literatura

- BEERLING, D. J., CHALONER, W. G. 1993. The impact of atmospheric CO₂ and temperature change on stomatal density: observations from *Quercus robur* lammas leaves. *Annals of Botany* 71: 231 - 235.
- BERNER, R. A. 2006. GEOCARBSULF: a combined model for Phanerozoic atmospheric O₂ and CO₂. *Geochemica et Cosmochimica Acta* 70: 5653 - 5664, sek. citace z Gerhart, Ward, 2010.
- BERNER, R. A., KOTHAVALA, Z. 2001. GEOCARB III: A revised model of atmospheric CO₂ over Phanerozoic time. *American Journal of Science* 301: 182 - 204.
- CASSON, S., GRAY, J. E. 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist* 178: 9 - 23
- CERLING, T.E. 1991. Carbon dioxide in the atmosphere: evidence from Cenozoic and Mesozoic paleosols. *American Journal of Science* 291: 377 - 400, sek. citace z Royer, 2006.
- CHEN, L.Q., LI, C.S., CHALONER, W.G., BEERLING, D.J., SUN, Q.G., COLLINSON, M.E., MITCHELL, P.L. 2001. Assessing the potential for the stomatal characters of extant and fossil *Ginkgo* leaves to signal atmospheric CO₂ change. *American Journal of Botany* 88: 1309 - 1315, sek. citace z Hoof et al., 2010.
- CROXDALE, J. L. 2000. Stomatal patterning in angiosperms. *American Journal of Botany* 87: 1069 - 1080.
- FERRIS, R., TAYLOR, G. 1994. Stomatal characteristics of four native herbs following exposure to elevated CO₂. *Annals of Botany* 73: 447 - 453.
- FLETCHER, B. J., BEERLING, D. J., ROYER, D. L., BRETNALLI, S.J. 2005. Fossil bryophytes as recorders of ancient CO₂ levels: Experimental evidence and a Cretaceous case study. *Global Biogeochemical Cycles* 19: GB3012, doi:10.1029/2005GB002495, sek.citace z Royer, 2006.
- FUJINUMA Y., MACHIDA T., OKANO K., NATORI T., TOTSUKA T. 1985. Screening of air-filtering plants: interspecific difference in characteristics of leaf diffusive resistance among broad-leaved tree species. *Res. Rep. Natl. Inst. Environmental Studies* 82: 13 - 28, sek. citace z Kamakura, Furukava, 2008.
- GERHART, L. M., WARD, J. K. 2010. Plant responses to low [CO₂] of the past. *Tansley review. New Phytologist* 188: 674 - 695.
- GRAY, J. E., HOLROYD, G. H., van der LEE, F. M., BAHRAMI, A. R., SIJMONS, P. C., WOODWARD, F. I., SCHUCH, W., HETHERINGTON, A. M. 2000. The HIC signalling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature* 408: 713 - 716.
- GUNDERSEN, H. J. G. 1977. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effect. *Journal of Microscopy* 111, 219 - 23.
- HAWORTH, M., HEATH, J. and McELWAIN, J. C. 2010. Differences in the response sensitivity of stomatal index to atmospheric CO₂ among four genera of *Cupressaceae* conifers. *Annals of Botany* 105: 411 - 418.
- van HOOFF, T. B., KÜRSCHNER, W. M., WAGNER, F. and VISSCHER, H. 2006. Stomatal index response of *Quercus robur* and *Quercus petraea* to the anthropogenic atmospheric CO₂ increase. *Plant Ecology* 183: 237 - 243.

- KAMAKURA, M., FURUKAVA, A. 2008. Responses of individual stomata in *Ipomoea pes-caprae* to various CO₂ concentrations. *Physiologia Plantarum* 132: 255 – 261.
- KONDO, T., KAJITA, R., MIYAZAKI, A., HOKOYAMA, M., NAKAMURA-MIURA, T., MIZUNO, S., MASUDA, Y., IRIE K., TANAKA, Y., TAKADA, S., KAKIMOTO, T., and SAKAGAMI, Y. 2010. Stomatal density is controlled by a mesophyll-derived signaling molecule. *Plant Cell Physiology* 51(1): 1 – 8.
- KOUWENBERG, L. L. R., McELWAIN, J.C., KÜRSCHNER, W.M., WAGNER, F., BEERLING, D. J., MAYLE, F. E. and VISSCHER, H. 2003. Stomatal frequency adjustment of four conifer species to historical changes in atmospheric CO₂. *American Journal of Botany* 90: 610 – 619.
- KOUWENBERG, L. L. R., KURSCHNER, W. M. and VISSCHER, H. 2004. Changes in Stomatal Frequency and Size During Elongation of *Tsuga heterophylla* Needles. *Annals of Botany* 94: 561 – 569.
- KÜRSCHNER, W. M. 1997. The anatomical diversity of recent and fossil leaves of the durmast oak (*Quercus petraea* Lieblein/*Q. pseudocastanea* Goeppert) – implications for their use as biosensors of palaeoatmospheric CO₂ levels. *Review of Palaeobotany and Palynology* 96: 1 – 30.
- LAMMERTSMA, E. I., de BOERB, H. J., DEKKERB, S. C., David L. DILCHERC, D. L., LOTTERA, A. F. and WAGNER-CREMER, F. 2011. Global CO₂ rise leads to reduced maximum stomatal conductance in Florida vegetation. *Environmental Sciences* 108: 4035 – 4040.
- LEAKEY, A. D. B. 2009. Review. Rising atmospheric carbon dioxide concentration and the future of C4 crops for food and fuel. *Proceedings of the Royal Society B* 276: 2333 – 2343
- LIN, J., JACH M. E., and CEULEMANS, R. 2001. Stomatal density and needle anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) are affected by elevated CO₂. *New Phytologist* 150: 665 – 674.
- MIYAZAWA, S-I., LIVINGSTON, N. J., TURPIN, D. H. 2006. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*). *Journal of Experimental Botany* 57: 373 – 380.
- MIYAZAWA, S-I., WARREN, C. R., TURPIN, D. H., and LIVINGSTON, N. J. 2011. Determination of the site of CO₂ sensing in poplar: is the area-based N content and anatomy of new leaves determined by their immediate CO₂ environment or by the CO₂ environment of mature leaves? *Journal of Experimental Botany*: doi:10.1093/jxb/erq454
- NÁTR, L.: Koncentrace CO₂ a rostliny, (ed.) ISV nakladatelství, Praha, 2000
- OWENS, J. N. 1968. Initiation and development of leaves in Douglas fir. *Canadian Journal of Botany* 46: 271 – 278.
- PAVLOVÁ, L.: Fyziologie rostlin. Nakladatelství Karolinum, Praha, 2005.
- PEARSON, P. N., PALMER, N. R. 2000. Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. *Nature* 406, 695 – 699, sek. citace z Smith et al., 2010.
- PITTERMANN, J. 2010. The evolution of water transport in plants: an integrated approach. *Geobiology* 8: 112 – 139 .

- ROYER, D. L. 2001. Stomatal density and stomatal index as indicators of paleoatmospheric CO₂ concentration. *Review of Palaeobotany and Palynology* 114: 1 – 28.
- ROYER, D. L. 2006. CO₂-forced climate thresholds during the Phanerozoic. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70: 5665 – 5675
- SERNA, L. and FENOLL, C. 2000. Stomatal development and patterning in *Arabidopsis* leaves. *Physiologia Plantarum* 109: 351 – 358.
- SMITH, R. Y., GREENWOOD, D. R., BASINGER, J. F. 2010. Estimating paleoatmospheric pCO₂ during the Early Eocene Climatic Optimum from stomatal frequency of *Ginkgo*, Okanagan Highlands, British Columbia, Canada. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 293: 120 – 131.
- TALBOTT, L. D., RAHVEH, E. and ZEIGER, E. 2003. Relative humidity is a key factor in the acclimation of the stomatal response to CO₂. *Journal of Experimental Botany* 390: 2141 – 2147.
- TERASHIMA, I., HANBA, Y. T., THOLEN, D., and NIINEMETS, U. 2011. Leaf Functional Anatomy in Relation to Photosynthesis. *Plant Physiology* 155: 108 – 116.
- TICHÁ, I. 1982. Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. 7. Stomata density and sizes. *Photosynthetica* 16: 375 – 471.
- VOTRUBOVÁ, O.: Anatomie rostlin. Nakladatelství Karolinum, Praha, 2001.
- WHEELER, M., MACKOWIAK, L., YORIO, N. C. and SAGER, J. C. 1999. Effects of CO₂ on Stomatal Conductance: Do Stomata Open at Very High CO₂ Concentrations? *Annals of Botany* 83: 243 – 251.
- WILLMER, C., FRICKER, M. 1996. The distribution of stomata. In: Willmer C, Fricker M (eds) *Stomata*. Chapman & Hall, London, 18 – 19, sek. citace z Kamakura, Furukawa, 2008.

Internetové odkazy

- <http://www.CO2now.org>
- <http://www.cooltheworld.com>
- <http://www.readers-edition.de>
- <http://classic.globe.gov/fsl/html/templ.cgi?carboncycleDia>
